

Kinerja Biosensor Konduktometri Berbasis (Screen Printed Carbon Electrode) SPCE—Kitosan untuk Deteksi Diazinon, Malation, Klorpirifos dan Profenofos

Nuzulul Kurniawan Isvani, Ani Mulyasuryani, Sasangka Prasetyawan

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

Email: mulyasuryani@ub.ac.id

Received: October 2015; Revised: November 2015; Accepted: November 2015; Available Online: August 2016

Abstrak

Kinerja biosensor didasarkan pada reaksi hidrolisis senyawa organofosfat yang dikatalisis oleh organofosfat hidrolase (OPH) menghasilkan ion H^+ dan spesi ionik lain yang mampu meningkatkan konduktivitas di permukaan (Screen Printed Carbon Electrode) SPCE. Pada penelitian ini, OPH diamobilkan secara ikatan silang pada membran kitosan–glutaraldehid yang telah terlapis di permukaan SPCE. Pengukuran dilakukan pada rentang konsentrasi organofosfat (0–3.0) ppm, masing–masing pada kisaran pH 7.0–9.0, dan dengan jumlah enzim 5–25 μ L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja biosensor optimum diperoleh pada 25 μ L OPH, pH 8.5, dengan sensitivitas terhadap diazinon, malation, klorpirifos dan profenofos berturut–turut 1.353 μ S/ppm, 1.270 μ S/ppm, 1.230 μ S/ppm dan 1.77 μ S/ppm dan LOD berturut–turut 0.97; 1.03; 0.98; 0.97 ppm.

Kata kunci: Biosensor konduktometri, pestisida organofosfat, organofosfat hidrolase, SPCE (screen printed carbon electrode).

Abstract

The performance of biosensor is based on the hydrolysis reaction of organophosphorus compounds catalyzed by organophosphate hydrolase (OPH), produce H^+ and the other ionic species that increase conductance on the surface of electrode. In this research, OPH was immobilized by crosslinking on chitosan–glutaraldehyde membrane on the (Screen Printed Carbon Electrode) SPCE surface. Measurements were carried out at the range concentration 0 to 3.0 ppm of organophosphate, the range of pH 7.0 to 9.0 and 5–25 μ L of enzyme. The result showed that optimum performances were obtained at 25 μ L of OPH, pH 8.5, with the sensitivity for diazinon, malathion, chlorpirifos and profenofos is 1.353 μ S/ppm, 1.270 μ S/ppm, 1.230 μ S/ppm dan 1.77 μ S/ppm respectively and 0.97; 1.03; 0.98; 0.97 of LOD.

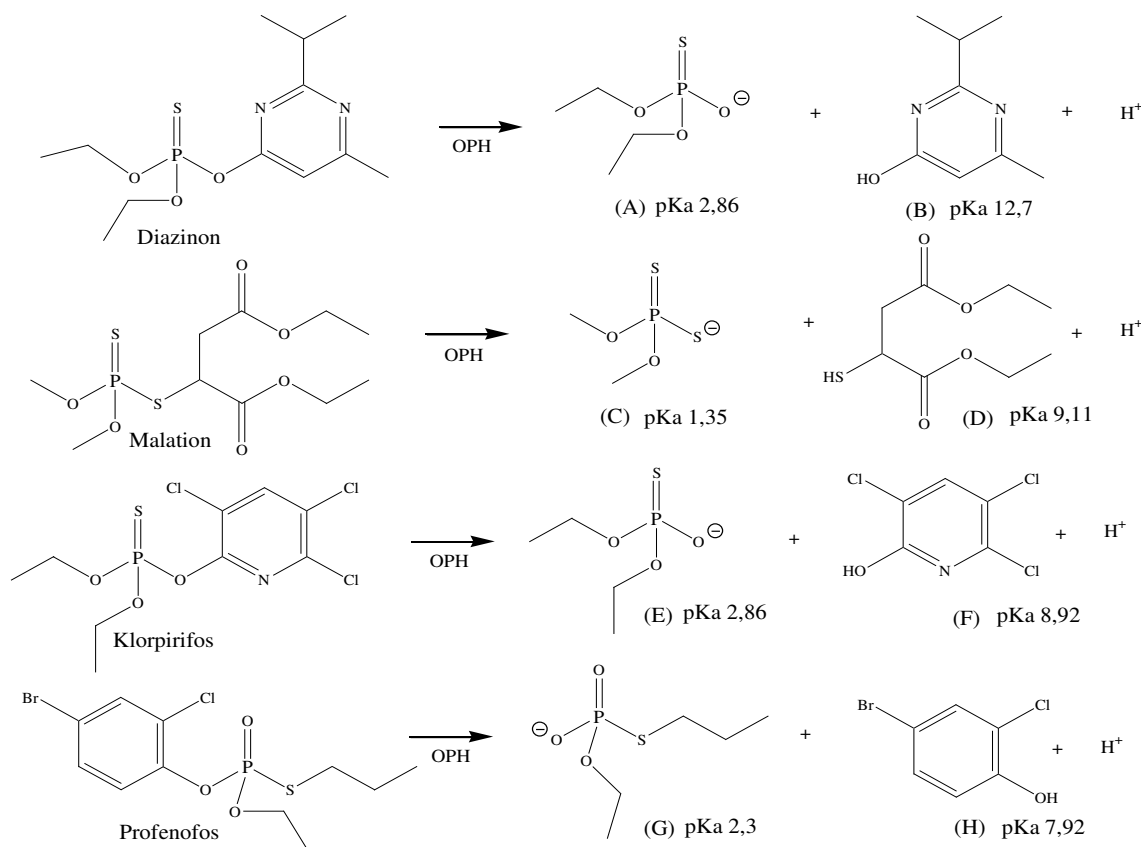
Keywords: Conductometric biosensor, organophosphate pesticide, organofosfat hydrolase, SPCE (screen printed carbon electrode).

DOI : <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3156>.

1. PENDAHULUAN

Senyawa organofosfat merupakan senyawa yang digunakan secara luas di bidang pertanian sebagai pestisida. Organofosfat yang umum digunakan dalam bidang pertanian meliputi diazinon, malation, klorpirifos dan profenofos. Penggunaan senyawa tersebut terus mengalami peningkatan (Gahlaut *et al.*, 2012). Sisa pestisida pada

produk pertanian tidak boleh melebihi ambang batas maksimal, karena berbahaya bagi organisme lain yang bukan target (Mostafa, 2010). Saat ini diperlukan perangkat analitik yang ringkas, cepat dan akurat untuk analisis sisa pestisida. Salah satu alternatif yang sedang dikembangkan adalah biosensor. Prinsip deteksi biosensor didasarkan pada reaksi hidrolisis senyawa organofosfat menghasilkan ion hidronium dan spesi ionik lain (gambar 1).



Gambar 1. Reaksi hidrolisis senyawa organofosfat oleh OPH

Reaksi hidrolisis tersebut dikatalisis oleh enzim organofosfat hidrolase (OPH). Organofosfat hidrolase (OPH) dapat menghidrolisis ikatan antara atom P dengan atom O, F, dan S pada senyawa organofosfat (Paliwal, 2008). OPH menghidrolisis gugus pergi yang spesifik pada setiap senyawa organofosfat melalui mekanisme reaksi S_N2 (Efremenko dan Sergeeva, 2001; Aubert dan Raushel, 2004; Lewis *et al.*, 1988). Produk hidrolisis tersebut akan meningkatkan konduktivitas di permukaan elektroda. Peningkatan konduktivitas yang terukur akan berhubungan dengan konsentrasi analit. Ion hidronium memiliki andil besar dalam perubahan konduktivitas, karena spesi tersebut memiliki mobilitas dan konduktivitas molar yang paling tinggi (Jaffrezic dan Dzyadevych, 2008).

Parameter yang dipelajari pada penelitian ini meliputi pH, jumlah enzim dan luas permukaan SPCE. Jumlah enzim amobil mempengaruhi kecepatan hidrolisis organofosfat di permukaan elektroda. Namun karena luas permukaan SPCE terbatas, jumlah

enzim amobil tidak boleh berlebihan. Jika terlalu banyak, enzim akan menutupi seluruh permukaan elektroda dan menghalangi difusi substrat keluar masuk membran. Disisi lain pH berpengaruh terhadap aktivitas enzim dan disosiasi produk hidrolisis.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas umum (Duran dan Pyrex), timbangan analitik (Mettler Toledo AL204), pipet mikro (Accumax pro dan Eppendorf), pH meter digital (Trans Instrumens Senz Pai), sentrifuse dingin (Sigma-Sartorius 3-18K), konduktometer (rakitan, Laboratorium Elektronika Teknik Elektro Universitas Brawijaya), oven (Memmert dan Yenaco YNC-OV-30L), magnetik stirer (Cimarec), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu 1601) dan SPCE (Quasense inc., Thailand).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas putida*, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

(p.a), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (p.a), $\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (p.a), KOH (p.a), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (p.a), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (p.a), ekstrak yeast, sukrosa (p.a), nutrisi agar (p.a), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (p.a), organofosfat hidrolase, larutan bovine serum albumin 22% dalam 0.85% NaCl (sigma A7034), diazinon (600 g/L), malation (500 g/L), klorpirifos (200 g/L), profenofos (500 g/L), padatan kitosan, glutaraldehid 25% (v/v), padatan tris(hidroksimetil) aminometan, larutan HCl pekat 37% (b/b) 1.18 g/mL, akuades steril, asam asetat glasial 99.7% (b/b) 1.045 g/mL, dan akuades.

Isolasi Organofosfat Hidrolase (OPH)

Organofosfat hidrolase (OPH) diisolasi dari bakteri *Pseudomonas putida*. Enzim OPH yang telah diekstrak dari *Pseudomonas putida* dimurnikan dengan metode fraksinasi bertingkat menggunakan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 0–65%. Enzim yang telah dimurnikan ditentukan konsentrasinya dengan metode biuret dan diuji aktivitasnya terhadap diazinon, malation, klorpirifos dan profenofos dengan metode spektrofotometri (Wardani et al., 2014).

Pada penelitian ini biosensor konduktometri dibuat menggunakan SPCE (*screen print carbon electrode*) sebagai elektroda. Luas SPCE yang digunakan adalah $5 \times 1.5 \text{ mm}^2$. Luas SPCE yang akan dilapisi membran dibatasi dengan selotip. Selanjutnya SPCE yang telah diselotip dilapisi dengan kitosan 1% (b/v) kemudian glutaraldehid 0.5% (v/v) masing-masing sebanyak 10 μL , setelah itu didiamkan selama 5 menit, selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan temperatur 50 °C selama 30 menit. Elektroda yang sudah dilapisi membran dibilas dengan larutan akuades untuk menetralkan membran tersebut. Selanjutnya elektroda dibilas dengan akuades dan didiamkan dalam desikator selama 30 menit. Enzim organofosfat hidrolase (OPH) kemudian diamobilkan secara ikatan silang pada membran kitosan yang telah terlapisi di permukaan SPCE. Glutaraldehid digunakan sebagai senyawa pengikat silang.

Pengaruh pH dipelajari pada 7.0; 7.5; 8.0; 8.5 dan 9.0 menggunakan buffer tris-asetat, dengan jumlah enzim 25 μL , dan larutan uji pada kisaran 0–1.5 ppm. Pengukuran untuk masing-masing pH dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Setelah itu dibuat kurva hubungan antara

konsentrasi organofosfat terhadap konduktansi yang terukur untuk mengetahui pH optimum.

Optimasi Jumlah Enzim (OPH). Elektroda yang telah dilapisi enzim dengan jumlah tertentu (5; 10; 15; 20; 25 μL) digunakan untuk mengukur larutan uji dengan kisaran konsentrasi (0–3.0) ppm pada pH optimum. Pengukuran untuk masing-masing konsentrasi organofosfat dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Untuk setiap pengulangan dibuat elektroda baru. Setelah itu dibuat kurva hubungan antara konsentrasi organofosfat terhadap konduktansi yang terukur untuk mengetahui jumlah enzim optimum.

Optimasi Luas Permukaan SPCE. Pada optimasi pH dan jumlah enzim digunakan SPCE dengan luas permukaan $5 \times 1.5 \text{ mm}^2$. SPCE diperluas menjadi $7 \times 1.5 \text{ mm}^2$, kemudian dilapisi enzim dengan jumlah optimum. Pengukuran dilakukan pada larutan uji organofosfat kisaran (0–3.0) ppm, dengan 3 kali pengulangan untuk setiap luas SPCE.

Karakterisasi elektroda dengan jumlah enzim optimum dan luas permukaan elektroda optimum digunakan untuk mengukur larutan uji organofosfat pH optimum dengan konsentrasi (0–3.0) ppm. Pengukuran dilakukan hingga diperoleh sinyal yang relatif konstan, dengan standar deviasi pembacaan tidak lebih 1 μS . Setelah itu dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dengan daya hantar. Kurva yang terbentuk memiliki persamaan regresi linear $y = ax + b$. Kepekaan biosensor ditunjukkan oleh kemiringan garis (a). Kisaran konsentrasi ditentukan dari daerah linier sinyal (konduktansi) terhadap perubahan konsentrasi organofosfat. Batas deteksi ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Sinyal Limit deteksi} = (y_B + 3 \times s_B) \quad (1)$$

dimana y_B adalah sinyal blanko (intersep) dan s_B adalah standar deviasi blanko. Selanjutnya nilai $(y_B + 3 \times s_B)$ diinterpolasikan pada persamaan regresi untuk memperoleh nilai absis (limit deteksi).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh pH terhadap Kinerja Biosensor. Aktivitas enzim OPH bergantung pada pH (Milani et al., 2015). Perubahan pH mengakibatkan perubahan muatan pada enzim.

Perubahan muatan pada asam amino tersebut akan mempengaruhi konformasi enzim. Selain itu reaksi hidrolisis organofosfat juga bergantung pada pH. Hidrolisis organofosfat pada suasana asam menghasilkan pemutusan ikatan pada substituen fosfat yang lebih kecil. Sedangkan pada suasana basa reaksi hidrolisis akan menghasilkan pemutusan ikatan pada substituen fosfat yang berukuran yang lebih besar (Silva *et al.*, 2013). Oleh karena itu pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kinerja biosensor.

Pada percobaan ini dipelajari pH larutan uji organofosfat pada kisaran (7.0–9.0), dan rentang konsentrasi organofosfat (0–1.5) ppm. Hasil pengukuran pengaruh pH terhadap kinerja biosensor disajikan pada gambar 2A. Gambar 2A menunjukkan bahwa pH mempengaruhi kepekaan biosensor. Kepekaan biosensor pada kisaran pH (7.0–8.0) lebih kecil apabila dibandingkan dengan pH 8.5 dan 9.0. Harga kepekaan yang kecil pada pH (7.0–8.0) ini disebabkan oleh aktivitas enzimatis OPH yang kecil pada kisaran pH (7.0–8.0). Enzim OPH menunjukkan aktivitas yang baik pada kisaran pH 8.5 sampai dengan 11 (Votchitseva, 2006). Di literatur lain menyebutkan pada kisaran (8.5–9.5) dan (7–9) (Efremenko dan Sergeeva, 2001; Milani *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, kepekaan yang tinggi diperoleh pada pH 8.5 khususnya untuk malation, klorpirifos dan profenofos.

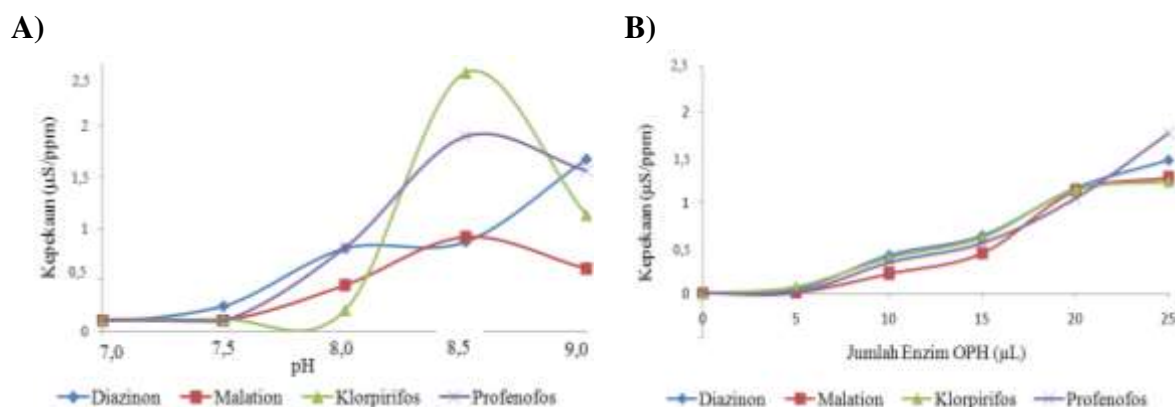
Pada pH 8.5 biosensor malation, klorpirifos dan profenofos mencapai kepekaan tertinggi yakni sebesar 0.915; 2.517 dan 1.896 $\mu\text{S/ppm}$ dengan harga koefisien korelasi berturut-turut 0.828; 0.808 dan 0.846. Pada pH 9.0 biosensor ketiga senyawa organofosfat tersebut mengalami penurunan kepekaan. Secara teoritis, harga kepekaan pada pH 9.0 seharusnya lebih tinggi dari pada pH 8.5, karena enzim OPH memiliki aktivitas dan stabilitas yang baik pada pH (8.5–11.0). Namun pada penelitian kali ini justru pada pH 9.0 ketiga biosensor tersebut mengalami penurunan kepekaan dan linearitas.

Hasil pengukuran diazinon berbeda dengan yang lain. Kepekaan biosensor tersebut mengalami peningkatan kepekaan pada pH 9.0. Namun apabila dihitung koefisien korelasinya, koefisien korelasi pada pH 9.0 lebih kecil dari pada pH 8.5. Koefisien korelasi biosensor

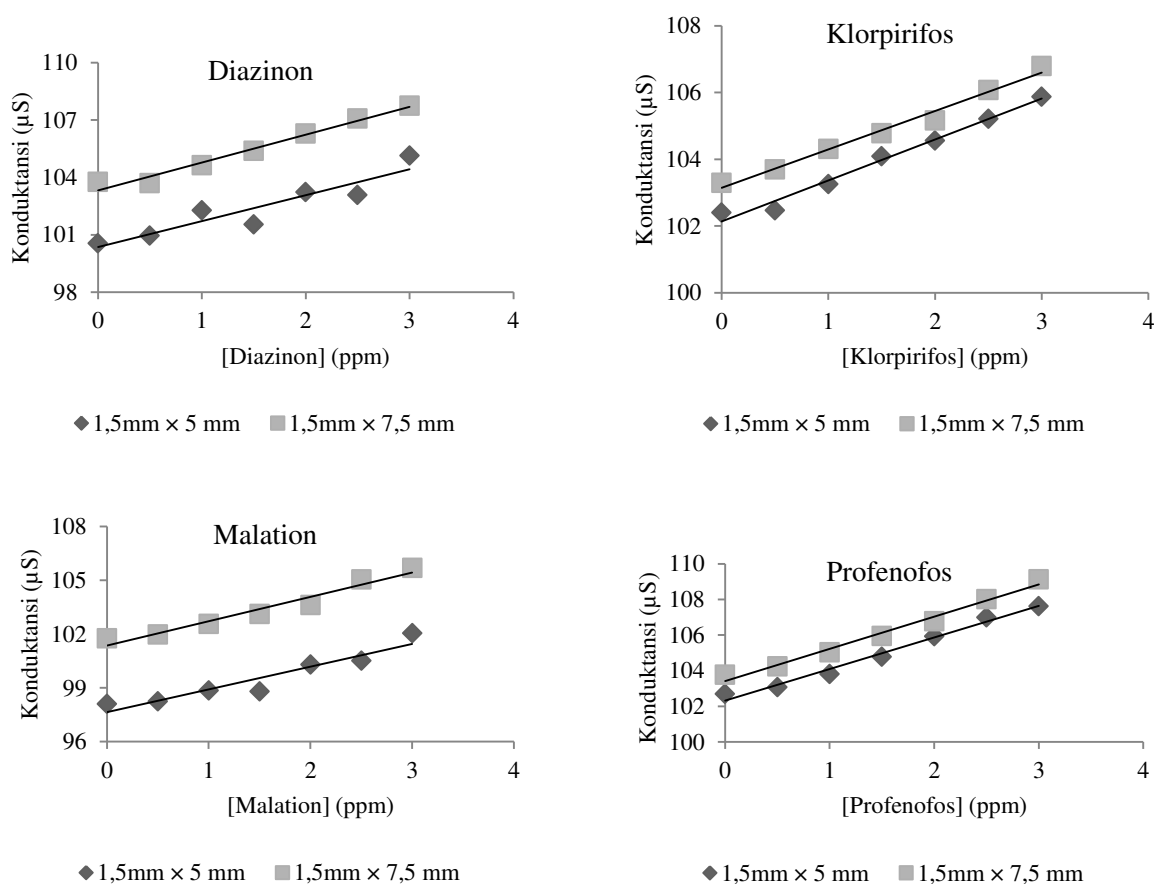
diazinon pada pH 8.5 dan 9.0 sebesar 0.874 dan 0.789. Pada pH 8.5, keseluruhan biosensor memiliki koefisien korelasi lebih dari 0.800 dan semuanya mengalami penurunan pada pH 9.0. Koefisien korelasi biosensor diazinon, malation, klorpirifos dan profenofos pada pH 9.0 berturut-turut 0.789; 0.785; 0.790 dan 0.710.

Penurunan kepekaan dan koefisien korelasi biosensor pada pH 9.0 kemungkinan besar disebabkan oleh kerusakan membran kitosan–glutaraldehid pada suasana basa, sehingga enzim akan mudah terlepas dari permukaan elektroda. Pada penelitian ini, enzim OPH diamobilkan secara ikatan silang pada membran kitosan dengan glutaraldehid sebagai senyawa pengikat silang. Ikatan imina ini tidak stabil pada suasana yang sangat asam atau basa. Kemungkinan besar hal inilah yang menyebabkan enzim mudah terlepas pada pH 9.0 yang mengakibatkan penurunan kepekaan dan linearitas biosensor. Jadi meskipun aktivitas enzim mencapai puncaknya pada pH (9.0–11.0), kinerja biosensor optimum tidak akan tercapai pada pH tersebut apabila enzim tidak teramobilisasi dengan baik di permukaan SPCE.

Pengaruh Jumlah Enzim OPH terhadap Kinerja Biosensor. Biosensor berbasis enzim mengukur hasil reaksi enzimatis sebagai dasar respon. Peningkatan jumlah enzim OPH akan meningkatkan jumlah kompleks enzim–substrat [ES] yang terbentuk sehingga akan mempercepat laju reaksi hidrolisis yang terjadi. Produk hidrolisis yang terbentuk di permukaan elektroda semakin banyak sehingga secara otomatis akan meningkatkan kepekaan biosensor. Berdasarkan Gambar 2B, peningkatan jumlah enzim meningkatkan kepekaan biosensor. Keseluruhan biosensor menunjukkan kinerja yang optimum pada jumlah enzim 25 μL , dengan harga kepekaan untuk diazinon, malation, klorpirifos dan profenofos berturut-turut 1.466; 1.269; 1.229 dan 1.767 $\mu\text{S/ppm}$ dan koefisien korelasi sebesar 0.9439; 0.900; 0.983 dan 0.9848. Urutan kepekaan ini berbanding lurus dengan hasil uji aktivitas yang telah dilakukan. Berdasarkan uji aktivitas yang telah dilakukan, aktivitas yang tertinggi diperoleh pada substrat profenofos, sebesar 113 $\mu\text{M/mL}$.menit, disusul diazinon, klorpirifos, dan malation sebesar 77.64; 53.31 dan 27.67 $\mu\text{M/mL}$.menit.



Gambar 2. Pengaruh pH (A) dan jumlah enzim (B) terhadap kepekaan biosensor



Gambar 3. Pengaruh luas SPCE terhadap konduktansi senyawa organofosfat

Aktivitas enzim bukanlah satu-satunya faktor yang paling berpengaruh terhadap produk hidrolisis. Kestabilan basa konjugat dari gugus pergi juga mempengaruhi produk hidrolisis. Contohnya 4-bromo-2-kloro-fenol, Gugus pergi profenofos ini memiliki substituen atom bromida dan klorida yang bersifat

penarik elektron. Pada saat gugus pergi ini terhidrolisis, maka akan terbentuk basa konjugat yang paling stabil jika dibandingkan dengan basa konjugat dari gugus pergi yang lain. Kestabilan basa konjugat ini disebabkan oleh delokalisasi ion fenolat tersubstitusi. Delokalisasi akan meningkatkan densitas

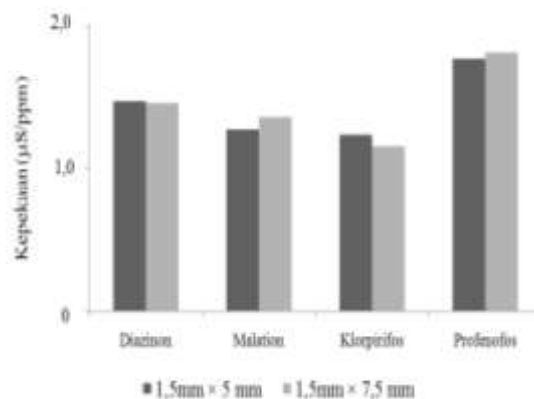
elektron di cincin benzen, sehingga muatan negatif tidak terpusat di satu titik. Jika muatan negatif ini terpusat pada suatu titik maka reaktivitas akan meningkat dan cenderung mengikat ion hidronium kembali. Hal inilah yang mengakibatkan pKa dari gugus pergi profenofos paling kecil dibandingkan yang lainnya sehingga biosensor memiliki kinerja yang baik pada substrat profenofos.

Pengaruh Luas SPCE terhadap Kinerja Biosensor. Pada penelitian ini digunakan SPCE dengan luas $5 \times 1.5 \text{ mm}^2$ dan $7 \times 1.5 \text{ mm}^2$. SPCE dengan luas $5 \times 1.5 \text{ mm}^2$ digunakan pada saat penentuan pengaruh pH dan jumlah enzim. Luas SPCE diperluas menjadi $7 \times 1.5 \text{ mm}^2$ setelah pH dan jumlah enzim optimum diketahui. Luas $7 \times 1.5 \text{ mm}^2$ merupakan luas maksimal SPCE yang mampu tercelup di dalam wadah sampel dengan kapasitas 300 μL , sedangkan pada luas $5 \times 1.5 \text{ mm}^2$, SPCE hanya tercelup $\frac{3}{4}$ bagian dari wadah larutan uji.

Gambar 3 menunjukkan konduktansi pada pH 8.5 dan 25 μL OPH, Secara teoritis, konduktivitas berbanding lurus dengan luas SPCE. Peningkatan luas SPCE akan meningkatkan harga konduktivitas yang terukur. Hasil ini juga diperoleh pada penelitian yang telah dilakukan. Berdasarkan Gambar 3A peningkatan luas SPCE meningkatkan konduktansi yang terukur, namun tidak berpengaruh pada kepekaan biosensor.

Peningkatan luas permukaan SPCE akan meningkatkan area amobilisasi enzim sekaligus mengurangi ketebalan membran yang terbentuk, sehingga sebaran enzim OPH di permukaan elektroda menjadi lebih teratur. Area amobilisasi yang lebih besar diharapkan mampu meningkatkan kepekaan biosensor. Namun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan peningkatan luas permukaan SPCE

tidak memberikan peningkatan kepekaan yang besar pada semua biosensor (gambar 4). Hal ini disebabkan jumlah enzim 25 μL masih belum mencapai titik jenuh (gambar 2b). Berdasarkan hasil pengaruh jumlah enzim terhadap kinerja biosensor, peningkatan enzim terus meningkatkan kepekaan biosensor yang terukur.



Gambar 4. Pengaruh luas permukaan SPCE terhadap kepekaan biosensor

Karakterisasi biosensor dilakukan pada kondisi yang memberikan kinerja optimum, yakni dengan menggunakan larutan buffer tris-asetat pH 8.5, jumlah enzim 25 μL dan luas permukaan elektroda $5 \times 1.5 \text{ mm}^2$. Hasil karakterisasi dari keempat jenis biosensor dirangkum pada tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, biosensor memiliki kepekaan yang tertinggi terhadap profenofos, diikuti diazinon, malation dan klorpirifos. Kepekaan biosensor terhadap klorpirifos dan malation tidak terlalu berbeda jauh. Kepekaan biosensor terhadap profenofos paling tinggi dari pada yang lain. Hal ini disebabkan oleh aktivitas yang tinggi dari enzim OPH terhadap substrat ini.

Selain itu gugus pergi profenofos

Tabel 1. Hasil karakterisasi biosensor

Parameter	Biosensor			
	Diazinon	Malation	Klorpirifos	Profenofos
Kisaran konsentrasi	(0–3.0) ppm	(0–3.0) ppm	(0–3.0) ppm	(0–3.0) ppm
Persamaan regresi	$y = 1.353x + 100.30$	$y = 1.270x + 97.64$	$y = 1.230x + 102.10$	$y = 1.77x + 102.30$
Kepekaan ($\mu\text{S/ppm}$)	1.35	1.27	1.23	1.77
Linearitas	0.861	0.953	0.983	0.985
Batas deteksi	0.97 ppm	1.03 ppm	0.98 ppm	0.97

memiliki harga pKa yang paling kecil daripada gugus pergi yang lain. Hal ini mengakibatkan hidronium dari hidrolisis profenofos jauh lebih banyak apabila dibandingkan dengan yang lain. Oleh karena itu biosensor memiliki kepekaan yang tertinggi untuk substrat ini.

Kepekaan biosensor terhadap diazinon terbesar kedua. Meskipun gugus pergi diazinon tidak mengalami protonasi karena harga pKa-nya yang tinggi, enzim OPH memiliki aktivitas yang tinggi terhadap substrat diazinon. Hal ini disebabkan oleh gugus pergi diazinon, 2-Isopropyl-6-metil-pirimidin-4-ol, merupakan gugus pergi yang baik.

Kepekaan biosensor terhadap malation dan klorpirifos tidak terlalu berbeda jauh, karena gugus pergi dari kedua senyawa tersebut memiliki pKa yang tidak berbeda jauh pula, yaitu 9.11 untuk dietil 2-sulfanilsuksinat (gugus pergi malation) dan 8.92 untuk 3,5,6-Trikloro-piridin-2-ol (gugus pergi klorpirifos). Sehingga pada pH yang sama jumlah hidronium yang dihasilkan dari gugus pergi kedua senyawa ini tidak terlalu berbeda jauh. Namun LOD malation sangat besar apabila dibandingkan dengan LOD klorpirifos, karena aktivitas OPH terhadap substrat ini paling kecil diantara yang lain. Sehingga untuk menghasilkan produk hidrolisis dengan jumlah yang sama dibutuhkan konsentrasi malation yang lebih besar. Aktivitas OPH yang kecil terhadap malation kemungkinan besar disebabkan oleh gugus pergi malation merupakan gugus pergi yang kurang baik apabila dibandingkan dengan senyawa organofosfat yang lain.

4. SIMPULAN

Biosensor konduktometri untuk senyawa organofosfat diazinon, malation, klorpirifos dan profenofos dapat dibuat dengan mengamobilkan enzim organofosfat hidrolase (OPH) di permukaan elektroda SPCE-kitosan secara ikatan silang dengan glutaraldehid. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kinerja biosensor dipengaruhi oleh pH, jumlah enzim OPH, dan aktivitas enzim OPH.

Biosensor konduktometri menunjukkan kinerja optimum pada buffer tris-asetat pH 8.5, dengan jumlah enzim OPH sebanyak 25 µL dan luas permukaan SPCE 1.5×5.0 mm². Biosensor memiliki kisaran konsentrasi (0–3.0) ppm, kepekaan untuk diazinon, malation,

klorpirifos dan profenofos berturut-turut 1.353 µS/ppm; 1.270 µS/ppm; 1.230 µS/ppm dan 1.77 µS/ppm. Karakteristik biosensor ini cocok untuk digunakan analisis sisa pestisida pada produk pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aubert SD, Li Y, Raushel FM. 2004. Mechanism for the hydrolysis of organophosphates by the bacterial phosphotriesterase[†]. *Biochemistry*. 43(19): 5707.
- Efremenko EN, VS Sergeeva. 2001. Organophosphate hydrolase –an enzyme catalyzing degradation of phosphorus-containing toxin and pesticides. *Russian Chemical Bulletin International Edition*. 50 (10): 1863.
- Gahlaut A, Gothwal A, Chhillar AK, Hooda V. 2012. Electrochemical biosensors for determination of organophosphorus compounds: Review. *Journal of Applied Biosensor*. 1(1): 1.
- Jaffrezic-Renault N, Dzyadevych SV. 2008. Review: Conductometric microbiosensors for environmental monitoring. *Sensors*. 8: 2569.
- Lewis VE, Donarski WJ, Wild KR, Raushel FM. 1998. Mechanism and stereochemical course at phosphorus of the reaction catalyzed by a bacterial phosphotriesterase. *Biochemistry*. 27(5): 1591.
- Milani MM, Lotfi AS, Mohsenifar A, Mikaili P, Kamelipour N, Dehghan J. 2015. Enhancing organophosphorus hydrolase stability by immobilization on chitosan beads containing glutaraldehyde. *Research Journal of Environmental Toxicology*. 9(34): 34.
- Mostafa GAE. 2010. Electrochemical biosensors for the detection of pesticides. *Electrochemistry Journal*. 2: 22..
- Paliwal S, Dissertation. 2008. Development of enzyme based biosensor for the detection of organophosphate neurotoxins. [Dissertation]. Auburn (1): Faculty of Sciences Auburn University.
- Silva NAD, Birolli WG, Selegim MHR, Porto ALM. 2013. Applied bioremediation-active and passive approaches. *Rijeka*. (385): InTech.

- Votchitseva YA, Efremenko EN, Aliev TK, Varfolomeyev SD. 2006. Properties of hexahistidine-tagged organophosphate hydrolase. *Biochemistry Mosc.* 71(7):167.
- Wardani KK, Wijaya SW, Prasetyawan S, Mahdi C, Roosdiana A. 2014. Karakterisasi enzim organofosfat hidrolase (OPH) dari *pseudomonas putida* pada substrat diazinon, malation, klorpirifos dan profenofos. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya.* 2(1): 365.